



⑯ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑯ ⑯ Offenlegungsschrift
⑯ DE 196 40 722 A 1

⑯ Int. Cl. 6:
C 12 N 15/00

⑯ ⑯ Aktenzeichen: 196 40 722.2
⑯ ⑯ Anmeldetag: 2. 10. 96
⑯ ⑯ Offenlegungstag: 23. 4. 98

BEST AVAILABLE COPY

⑯ Anmelder:

Stiftung für Lasertechnologien in der Medizin und
Meßtechnik an der Universität Ulm, 89081 Ulm, DE

⑯ Erfinder:

Rück, Angelika, Dr., 89075 Ulm, DE;
Rimmele-Schick, Elisabeth, Dr.med., 89584
Ehingen, DE; Steiner, Rudolf, Dr., 89081 Ulm, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Der Inhalt dieser Schrift weicht von dem am Anmeldetag eingereichten Unterlagen ab

⑯ Verfahren und Vorrichtung zur Zell- und Gewebezerstörung durch Methylen Blau (MB+) in Verbindung mit
polychromatischem Licht im roten Frequenzbereich

⑯ Der Farbstoff Methylen Blau (MB⁺) ist topisch appliziert
als Sensibilisator für die photodynamische Lasertherapie
verwendbar. In Lösung, im Gel oder in einer Salben-
grundlage mit vorzugsweise 10% Farbstoffkonzentration
angewandt, lassen sich Gewebe, Hautveränderungen
oder Psoriasis Plaques selektiv mit MB⁺ anreichern.
Durch Einstrahlen von Licht im Wellenlängenbereich
600-700 nm, vorzugsweise in den Absorptionsbanden
615-625 nm und 660-670 nm, lässt sich der phototoxische
Effekt optimieren.

Die Bestrahlungs-Vorrichtung strahlt erfindungsgemäß
polychromatisches Licht dieser beiden Wellenlängenban-
den ab. Die Ausführung ist als Kalottenstruktur mit Strah-
lenquellenelementen (LEDs bzw. Laserdioden) der ge-
nannten Wellenlängen vorgesehen. Zur Optimierung des
gewebezerstörenden Effekts sollte das Verhältnis der In-
tensitäten beider Spektralbanden um den Faktor 2-5 vari-
ierbar sein, um während der Bestrahlung entstehende
Photoproducte noch in die phototoxische Wirkung mit
einzubinden.

DE 196 40 722 A 1

DE 196 40 722 A 1

Beschreibung

Der Farbstoff Methylen Blau (MB^+) ist klinisch zugelassen und wird seit langer Zeit zum Anfärben von Gewebe nach systemischer Applikation an Patienten genutzt, z. B. um Tumorgewebe von normalem Gewebe zu differenzieren, oder um die Verteilungsfunktion im Körper zu ermitteln. Andererseits werden fluoreszierende Farbstoffe für die photodynamische Lasertherapie (PDT) als Sensibilisator herangezogen. Diese Methode setzt voraus, daß das Sensibilisator-Molekül durch Absorption von Licht angeregt werden kann, dadurch in einen angeregten Singulettzustand übergeht und durch "inter system crossing" in einen langlebigeren Tripletzustand verharrt. Die Energie dieses Zustands kann an ein Sauerstoffmolekül übertragen werden, wodurch ein reaktives Singulett-Sauerstoff-Molekül entsteht (Typ II Reaktion), das über weitere Reaktionen Zellen zerstört. Es ist auch möglich, daß über Elektronentransfer Radikale entstehen, die ebenfalls reaktiv sind (Typ I Mechanismus). Dieser phototoxische Effekt ist für Häminatoporphyrinderivate bekannt (Handelsname: Photophrin, Photosan) aber auch für für eine Reihe anderer Farbstoffe der 2. Generation, die weiter im roten Spektralbereich absorbieren (Phthalocyanine, Bacteriopheophorbide, u. a.). Diese Substanzen reichern sich nach einer bestimmt Wartezeit nach Applikation in Tumorgewebe, entzündetem Gewebe oder in stark proliferierendem Gewebe an. Durch Einstrahlen – von Licht kann über den phototoxischen Effekt das Gewebe auf sehr schnelle Weise zerstört werden, ohne daß man operativ vorgehen muß.

Der Farbstoff Methylen Blau (MB^+) kann erfindungsgemäß ebenfalls ein guter Sensibilisator sein, wenn er nicht systemisch, sondern nur topisch angewandt wird. Systemisch appliziert (z. B. in die Vene injiziert) wird der Farbstoff Methylen Blau sofort reduziert und geht in eine leuko-Form über. Topisch (oberflächlich, äußerlich) angewandt bleibt Methylen Blau in der oxygenierten Form (MB^+) und wirkt in dieser Form auch als Sensibilisator nach dem oben beschriebenen Prinzip.

Als beste Applikationsform hat sich die Beimengung von Methylen Blau in einer Salbengrundlage, einem Gel oder in Lösung erwiesen. Die Konzentration von Methylen Blau sollte dabei im Bereich 1 bis 20% sein, vorzugsweise aber 10%. Oberflächlich auf befallene Haut (z. B. bei Psoriasis) aufgetragen, sollte Methylen Blau mehrere Stunden, typisch zwischen 3 und 6 Stunden, einwirken, bevor die Bestrahlung mit Licht bestimmter Wellenlänge erfolgt. Diese Zeit reicht aus, damit das Methylen Blau in das Gewebe eindringen kann und sich dort in dem Gewebe, das zerstört werden soll (z. B. Plaques bei Psoriasis) anreichert.

Für eine optimale Wirkung der Gewebezerstörung sollte die Bestrahlungsvorrichtung erfindungsgemäß polychromatisches Licht abstrahlen im Spektralbereich von 600 nm bis 700 nm. Die Absorptionsbanden des Methylen Blau liegen bei 620 nm und 665 nm. Deshalb ist es wünschenswert, starke Intensitätsüberhöhungen in diesen Maxima zu erreichen. Das läßt sich z. B. bei einer konventionellen Strahlquelle durch entsprechende Filtersets herbeiführen. Noch günstiger ist die Herstellung der Strahlungsquelle in Kalottenform, mit Diodenlasern oder LED's alternierend auf der kugeligen, konkaven Fläche bestückt, die Licht der Wellenlängenverteilung 615–625 nm bzw. 660–670 nm abstrahlen. In diesem Fall kann man auf Filter verzichten, die elektrische Energie wird mit hohem Wirkungsgrad in die gewünschte Lichtabstrahlung transformiert, so daß auch auf Kühlung verzichtet werden kann. Durch die Kalottenform überlagern sich die Einzelstrahlen der Elemente (Dioidenlaser, LED's) in einer definierten Entfernung, so daß ein Areal

von 8–10 cm im Durchmesser homogen ausgeleuchtet ist.

Die integrale Bestrahlungsstärke an der Gewebeoberfläche, im definierten Abstand der homogenen Ausleuchtung, sollte 30–150 mW/cm² betragen. Die Bestrahlungszeit ist so gewählt, daß die Bestrahlung 5 J/cm² beträgt. Einen besonderen Effekt kann man auch dadurch erreichen, daß die Intensität des applizierten Lichts in den beiden Frequenzbändern unterschiedlich zu einander variiert werden kann. Damit läßt sich die Tiefe der photodynamischen Reaktion in dem Gewebe anpassen und auch der Effekt selbst optimieren. Dieser erfindungsgemäß Gebrauch der Bestrahlungsvorrichtung gestattet es nämlich, auch während der Bestrahlung entstehende Photoprodukte, die selbst wieder Sensibilisatoreigenschaft besitzen, für den phototoxischen Effekt mit auszunutzen. Deshalb sollte mit zunehmender Bestrahlungszeit das Intensitätsverhältnis der beiden Frequenzbanden um den Faktor 2–5 regelbar und mit der Zeit automatisch steuerbar sein.

Als ein Beispiel hat sich diese Methode bei der Beseitigung von Plaques bei Psoriasis bestens bewährt und hat auch deutliche Vorteile gegenüber konventioneller Vorgehensweise. Stand der Technik ist die PUVA-Methode, das heißt die Gabe von Psoralen als Farbstoff und Bestrahlung mit UV-A. Diese ultraviolette Lichtquelle ist nicht ungefährlich, sie kann Mutationen im Gewebe hervorrufen und damit auch Krebs erzeugen. Bestrahlung im roten Frequenzbereich ist dagegen unschädlich. Alternativ wurde PDT auch mit dem Sensibilisator Protoporphyrin IX, der sich in dem Gewebe nach Gabe von ALA (δ -Aminolävulinsäure) bildet, bei Psoriasis durchgeführt. Hier treten aber als Nebenerscheinung starke Schmerzen- bei der Photoreaktion auf. Die Verwendung von Methylen Blau ist dagegen schmerzfrei und nach einem 3-monatigen Follow up kommt es zu einem kompletten Verschwinden der Psoriasis Plaques. Deshalb ist die topische Verwendung von Methylen Blau zur Zell- und Gewebezerstörung in Verbindung mit polychromatischem Licht der beschriebenen Wellenlängenbereiche und Vorrichtung bestens geeignet.

Patentansprüche

1. Das Verfahren und eine entsprechende Vorrichtung dienen der Proliferationshemmung bzw. Zerstörung von Zellen und Gewebeschichtendadurch gekennzeichnet, daß die Zellen oder das Gewebe mit dem Farbstoff Methylen Blau (MB^+) inkubiert und mit polychromatischem Licht im roten Spektralbereich bestrahlt werden.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß Methylen Blau in Lösung auf das Gewebe aufgetragen wird und die Farbstoffkonzentration je nach Bedarf zwischen 1% und 20%, typisch jedoch 10% beträgt.
3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß Methylen Blau einer Salbengrundlage beigegeben wird und in einer Farbstoffkonzentration von 1% bis 20%, typisch jedoch 10%, auf das Gewebe aufgetragen wird.
4. Verfahren nach Anspruch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß nach Eindiffusion des Farbstoffs, typisch nach 3 bis 6 Stunden, das angefärbte Areal mit polychromatischem Licht im roten Spektralbereich, speziell bei den Wellenlängen 620 ± 10 nm und 665 ± 10 nm breitbandig bestrahlt wird.
5. Verfahren nach Anspruch 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Bestrahlungsstärke 30–150 mW/cm², typisch jedoch ca. 70 mW/cm², und die gesamte Bestrahlung typisch 5 J/cm² betragen.

6. Vorrichtung zum Verfahren nach Anspruch 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß das Bestrahlungsgerät polychromatisches Licht abstrahlt, speziell die wirksamen Frequenzbereiche 615–625 nm und 660–670 nm. 5

7. Vorrichtung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Bestrahlungseinheit in Form eines Kugelkalotten-Segments ausgeprägt ist, in die einzelne Strahlungselemente, wechselweise für die beiden Spektralbereiche eingelassen sind, so daß im Abstand des Radius ein homogen ausgeleuchtetes Feld entsprechend der Strahldivergenz der Einzelstrahler entsteht. 10

8. Vorrichtung nach Anspruch 6 und 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Bestrahlungselemente leistungsstarke Leuchtdioden bzw. Laserdioden der geforderten Wellenlängenbereiche sind. 15

9. Vorrichtung nach Anspruch 6 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Bestrahlungsstärke der Frequenzbände um 620 nm relativ zur Bestrahlungsstärke der Frequenzbände um 665 nm, typisch um den Faktor 2–5, veränderbar ist. 20

10. Vorrichtung nach Anspruch 6 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß sich die Bestrahlungsstärke der beiden Frequenzbänder zeitlich kontinuierlich und unabhängig von einander während des Bestrahlungsverlaufs, entsprechend der Photoreaktion, variieren lassen. 25

30

35

40

45

50

55

60

65

- Leerseite -

THIS PAGE BLANK (USPTO)